

Fakultet: Tehnološko-metalurški fakultet
Univerziteta u Beogradu

UNIVERZITET U BEOGRADU

Obrazac 1

35/4
(Broj zahteva)

VEĆE NAUČNIH OBLASTI TEHNIČKIH NAUKA

2.2.2010
(datum)

(naziv stručnog veća kome se zahtev upućuje, shodno čl.75 Statuta
Univerziteta u Beogradu i čl.7 st.1. ovog Pravilnika)

Beograd
Studentski trg br. 1

ZAHTEV

za davanje saglasnosti na predlog teme doktorske disertacije

Molimo da, shodno članu 46. st.5. tač.3. Statuta Univerziteta u Beogradu ("Glasnik Univerziteta" br. 131/06), date saglasnost na predlog teme doktorske disertacije:

„RAZVOJ IMOBILISANIH SISTEMA SA PENICILIN-ACILAZOM IZ *Escherichia coli* **ZA DOBIJANJE POLUSINTETSKIH PENICILINA“**

NAUČNA OBLAST: **HEMIJA I HEMIJSKA TEHNOLOGIJA**

PODACI O KANDIDATU:

- Ime, ime jednog od roditelja i prezime kandidata:
MILENA (Grujo) ŽUŽA, dipl. inž.
- Naziv i sedište fakulteta na kome je stekao visoko obrazovanje:
Tehnološko-metalurški fakultet u Beogradu
- Godina diplomiranja: **2004. godine**
- Naziv magistarske teze kandidata:
- Naziv fakulteta na kome je magistarska teza odbranjena:
- Godina odbrane magistarske teze

Obaveštavamo vas da je Nastavno-naučno veće Tehnološko-metalurškog fakulteta u Beogradu na sednici održanoj

(naziv nadležnog tela fakulteta)

28.01.2010.godine razmotrilo predloženu temu i zaključilo da je tema podobna za izradu doktorske disertacije.

DEKAN FAKULTETA

Prof. dr Ivanka Popović

Prilog:

- Predlog teme doktorske disertacije sa obrazloženjem**
- Odluka Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta u Beogradu o podobnosti teme za izradu doktorske disertacije**

Na osnovu čl. 128. Zakona o visokom obrazovanju i čl. 122. Statuta Fakulteta, na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta od 28.01.2010. godine, doneta je

O D L U K A

*o prihvatanju Izveštaja Komisije za ocenu naučne zasnovanosti
teme doktorske disertacije i odobrenju izrade doktorske disertacije*

Prihvata se Izveštaj Komisije za ocenu naučne zasnovanosti predložene teme i odobrava izrada *doktorske disertacije* MILENI ŽUŽA, *dipl. inž.*, pod nazivom: „**RAZVOJ IMOBILISANIH SISTEMA SA PENICILIN-ACILAZOM IZ *Escherichia coli* ZA DOBIJANJE POLUSINTETSKIH PENICILINA**“, uz uslov da Veće naučnih oblasti Univerziteta u Beogradu da saglasnost na predlog teme.

Za mentora se određuje **Dr Zorica Knežević-Jugović, vanredni profesor TMF**

Rok za odbranu doktorske disertacije je 09.09.2012. godine.

Odluku dostaviti: Veću naučnih oblasti na saglasnost, kandidatu, mentoru, Službi za nastavno studentske poslove i arhivi Fakulteta.

D E K A N

Prof.dr. Ivanka Popović

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

Име и презиме: Зорица Кнежевић-Југовић

Звање: Ванредни професор

Списак радова објављених у научним часописима са Science Citation Index (SCI) листе који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. **Z. Knežević**, N. Milosavić, D. Bezbradica, Ž. Jakovljević, R. Prodanović, Immobilization of lipase from *Candida rugosa* on Eupergit® C supports by covalent attachment, *Biochemical Engineering Journal* **30** (2006) 269-278. ISSN: impakt faktor (IF 2006) 1.608; ISSN: 1369-703X.
2. **Z. Knežević**, G. Kukić, M. Vuković, B. Bugarski, B. Obradović, Operating regime of a biphasic oil/aqueous hollow-fiber reactor with immobilized lipase for oil hydrolysis, *Process Biochemistry*, **39(11)** (2004) 1377-1385. ISSN: 0032-9592; impakt faktor (IF 2004) 1.375.
3. Andrija Smelcerović, **Zorica Knežević-Jugović**, Živomir Petronijević, Microbial polysaccharides and their derivatives as current and prospective pharmaceuticals, Review paper, *Current Pharmaceutical Design*, **14(29)** (2008) 3168-3195. ISSN: 1381-6128, impakt faktor (IF 2008) 4.399.
4. N. Ognjanović, D. Bezbradica, **Z. Knežević-Jugović**, Enzymatic conversion of sunflower oil to biodiesel in a solvent-free system: Process optimization and the immobilized system stability, *Bioresource Technology*, **100(21)** (2009) 5146-5154; ISSN: 0960-8524; impact factor (IF 2008) 4.453.
5. M. Žuža, N. Milosavić, **Z. Knežević-Jugović**, Immobilization of modified Penicillin G acylase on Sepabeads carriers, *Chemical Papers* **63(2)** (2009) 117-124. ISSN: 0366-6352; impakt faktor (IF 2008) 0.758.
6. **Z. Knežević**, S. Bobić, B. Obradović, L. Mojović, B. Bugarski, Alginate-immobilized lipase by electrostatic extrusion for the purpose of palm oil hydrolysis in lecithin/isooctane system, *Process Biochemistry* **38(3)** (2002) 313-318. ISSN: 0032-9592, impact factor (IF 2002) 1.143.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА
Проф. др Иванка Поповић

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Nastavno–naučnog veća Tehnološko–metalurškog fakulteta u Beogradu održanoj 12.11.2009. godine, određeni smo za članove Komisije za ocenu naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije pod naslovom:

“RAZVOJ IMOBILISANIH SISTEMA SA PENICILIN-ACILAZOM IZ *Escherichia coli* ZA DOBIJANJE POLUSINTETSKIH PENICILINA”

koju je predložila Milena Žuža, dipl. inž. Komisija je pregledala prijavu i obrazloženje teme doktorske disertacije i Nastavno–naučnom veću podnosi sledeći

IZVEŠTAJ

A. OBRAZLOŽENJE TEME

1. Naučna oblast

Predložena tema i istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti biohemijskog inženjerstva i biotehnologije za koju je matičan Tehnološko-metalurški fakultet u Beogradu.

2. Predmet rada

Predmet rada ove disertacije je razvoj enzimskog postupka hidrolize prirodnog penicilina G u cilju dobijanja 6-aminopenicilanske kiseline (6-APK) kao osnovnog prekursora u sintezi polusintetskih antibiotika. Pri tome će se razmatrati dve reakcije i to hidroliza prirodnog penicilina G do 6-APK, i sinteza ampicilina iz dobijene 6-APK i odgovarajućeg acil donora. U obe reakcije će se kao katalizator koristiti nativna ili imobilisana penicilin-acilaza iz *Escherichia coli*. Polusintetski penicilini, pored cefalosporina, predstavljaju osnovnu grupu β -laktamskih antibiotika i spadaju u jedne od najkorišćenijih farmaceutskih preparata zbog širokog spektra dejstva i velike hemijske stabilnosti. Polusintetski antibiotici, ne pokazuju samo bolja svojstva kao što su povećana stabilnost, smanjena rezistencija mikroorganizama, lakša apsorpcija, već izazivaju i znatno manje sporednih efekata u poređenju sa prirodnim penicilinima.

Hemijski procesi hidrolize prirodnog penicilina se odvijaju na niskim temperaturama (niže od -30°C) pod strogo anhidrovanim uslovima u prisustvu organskih rastvarača i uz obaveznu zaštitu bočnih grupa da bi se izbeglo stvaranje sporednih proizvoda. Zbog toga se hemijski proces odvija dvostepeno uz znatno veću potrošnju skupih hemijskih reagenasa koji dovode do stvaranja toksičnog otpada i zagađenja životne sredine. Pored toga, zbog neselektivnosti hemijskog katalizatora, troškovi separacije i prečišćavanja proizvoda su veći, dok je njegov kvalitet značajno manji. Nasuprot ovome, enzimska hidroliza penicilina G se odvija pod blagim uslovima u vodenom rastvoru u slabo alkalnoj sredini ($\text{pH } 7,5$; $t=37^{\circ}\text{C}$). Zahvaljujući velikoj katalitičkoj aktivnosti i specifičnosti enzima nepotrebna je zaštita karboksilnih grupa u β -laktamskom jezgru, smanjen je rizik od racemizacije supstrata i odvijanja sporednih reakcija i nije potrebno dodavati toksične organske rastvarače koji se upotrebljavaju u konvencionalnim hemijskim procesima. Kao katalizator u enzimskim reakcijama koristi se nativna ili imobilisana penicilin-acilaza mikrobnog porekla.

Na osnovu pregleda velikog broja radova i патената u ovoj oblasti može se zaključiti da se radi o izuzetno aktuelnoj problematici i da se penicilin-acilaze već dugo ispituju i uspešno koriste kao katalizatori u proizvodnji polusintetskih antibiotika. Za ove enzimске procese u razvijenim zemljama razvijeni su različiti sistemi i postrojenja, neki od njih i do nivoa komercijalne primene. U tehnološkom smislu poseban značaj ima primena imobilisanih penicilin-acilaza na različitim nosačima čime se omogućava višekratna upotreba biokatalizatora, olakšana separacija finalnog proizvoda i kontinualno izvođenje reakcije u različitim reaktorima.

Razvoj efikasnog imobilisanog sistema sa penicilin-acilazom je veoma složen problem jer u toku imobilizacije može doći do neželjenih gubitaka aktivnosti enzima usled pretrpljenog hemijskog tretmana, a u toku izvođenja reakcije sa imobilisanim enzimom u ovim heterogenim sistemima obično dolazi do dodatnih gubitaka aktivnosti enzima usled difuzionih limitacija. Pored toga, vrsta nosača može značajno da utiče na raspodelu supstrata, proizvoda i protona vodonika u sistemu, a usled toga i na svojstva imobilisanog enzima kao što su aktivnost, specifičnost, pH i temperaturni profil, kinetička svojstva, inhibitorni efekti, stabilnost i druga. Naročito značajni pri izvođenju reakcije hidrolize penicilina G mogu da budu efekti raspodele 6-APK između nosača i rastvarača jer navedeni proizvod može da deluje kao kompetitivni inhibitor na enzim i da dovede do promene pH vrednosti u sistemu. Zbog toga, izbor postupka i nosača za imobilizaciju moraju biti pažljivo optimizovani.

U radu će se ispitati različiti postupci imobilizacije enzima na nekoliko prirodnih i sintetskih polimera sa različitim funkcionalnim grupama (hitozan, Eupergit C i C 250L, Sepabeads EC-EP, Sepabeads EC-EA, Sepabeads EC-HA). Prednost će biti data hemijskim metodama imobilizacije enzima na čvrste nosače (kovalentna imobilizacija) koje omogućavaju dobijanje stabilnih enzimskih preparata u dosta širokom intervalu procesnih uslova. Ovo je veoma važno pri proizvodnji farmaceutskih proizvoda gde ne sme doći do spiranja enzima i kontaminacije proizvoda proteinima. Pored toga, prema broju postupaka i specifičnih agenasa koji se koriste, kovalentna imobilizacija je raznovrsnija od ostalih i otvara mogućnosti ciljne promene svojstava imobilisanog enzima, tako da se može dobiti biokatalizator željene aktivnosti, specifičnosti prema supstratu, termalne i pH stabilnosti.

Za razvoj efikasnog enzimskog procesa veoma je važno da se nađe i odovarajuće reaktorsko rešenje i operativni uslovi za izvođenje reakcije sa imobilisanim enzimima. U tom cilju, za nekoliko odabranih imobilisanih enzima ispitaće se početna kinetika hidrolize penicilina G u tri reaktorska sistema: šaržnom reaktoru sa mešanjem, protočnom reaktoru sa pakovanim slojem čestica biokatalizatora i protočnom reaktoru sa pakovanim slojem sa recirkulacijom reakcione smeše. Na dobijene kinetičke rezultate primeniće se različiti kinetički modeli koji uzimaju u obzir različite vrste inhibicije i usvojiće se model koji pokazuje najbolje slaganje sa eksperimentalnim rezultatima. Ova kinetička ispitivanja su veoma važna da bi se na osnovu vrednosti kinetičkih konstanti izabrao najpogodniji reaktorski sistem za izvođenje reakcije koji dovodi do smanjenja inhibitornih uticaja supstrata i proizvoda reakcije.

Pored reakcije hidrolize prirodnih penicilina, penicilin-acilaza može da katalizuje reakcije sinteze polusintetskih antibiotika iz 6-APK i odgovarajućih acil donora. Reakcija se može izvoditi pri kinetički ili termodinamički kontrolisanim uslovima, pri čemu su od većeg značaja kinetički kontrolisane reakcije jer se teoretski mogu postići veći prinosi proizvoda. Međutim, optimizacija procesnih parametara kod kinetički kontrolisanih reakcija je složen problem usled toga što prinos proizvoda prolazi kroz maksimum za neko vreme odigravanja reakcije i, pri tome, pored temperature i pH, zavisi i od aktivnosti vode u sistemu i svojstava biokatalizatora. Generalno, u sistemima sa manjim sadržajem vode, kao što su sistemi sa kosolventima ili sa visokim koncentracijama supstrata, mogu se postići veći prinosi proizvoda zbog smanjenja brzine hidrolize kao kompetitivne reakcije. Po izboru imobilisanog biokatalizatora, u radu će se ispitati mogućnost sinteze ampicilina u nekoliko sistema sa različitim kosolventima, naročito poliolima, i velika pažnja će biti posvećena optimizaciji procesnih parametara u cilju postizanja većih prinosa polusintetskog antibiotika.

3. Naučni cilj rada

Osnovni cilj ove doktorske disertacije je optimizacija postupka sinteze polusintetskih antibiotika na bazi penicilina primenom imobilisane penicilin-acilaze iz *E. coli*. Pri tome će se razmatrati dve reakcije i to hidroliza prirodnog penicilina G do 6-APK, i naknadna sinteza ampicilina iz dobijene 6-APK i fenilacetil glicina katalizovane nativnom i imobilisanom penicilin-acilazom. Da bi se realizovao postavljeni cilj potrebno je izvršiti izbor nosača i metode za imobilizaciju enzima, optimizovati postupak imobilizacije enzima sa aspekta mase vezanog enzima i prinosa aktivnosti, okarakterisati dobijeni biokatalizator i ispitati razlike u kinetičkim osobinama nativne i imobilisane penicilin-acilaze, izabrati odovarajuće reaktorsko rešenje za izvođenje reakcije sa imobilisanim enzimima i ispitati operativna stabilnost sistema. Pored navedenog, biće ispitana mogućnost enzimске sinteze ampicilina u sistemu sa imobilisanim enzimom pri različitim procesnim uslovima u cilju postizanja maksimalnih prinosa i produktivnosti reakcije.

Da bi se utvrdile razlike u delovanju nativnog i imobilisanog enzima potrebno je u prvim fazama istraživanja izvršiti karakterizaciju nativne penicilin-acilaze iz *E. coli* i ispitati njena katalitička svojstva u

reakciji hidrolize penicilina G kao referentnom sistemu. U tom cilju utvrdiće se sadržaj proteina u komercijalnom enzimskom preparatu, specifična aktivnost, pH i temperaturni profil, termalna stabilnost kao i vrednosti kinetičkih konstanti i to Mihaelisove konstante, maksimalne brzine reakcije i konstante specifičnosti (k_{cat}/K_m). Isto tako, ispitaće se uticaji inhibicije supstratom u višku i proizvodima reakcije na brzinu reakcije u sistemu sa nativnim enzimom i u tom cilju biće određene vrste inhibicije i vrednosti konstanti inhibicije.

U drugom delu rada osnovna istraživanja će biti usmerena na stabilizaciju enzima različitim postupcima, odnosno na razvoj postupaka za očuvanje aktivnosti enzima u što dužem periodu lagerovanja i primene. U tom cilju ispitaće se nekoliko postupaka hemijske imobilizacije enzima na različitim prirodnim i sintetskim polimerima (hitozan, Eupergit, Sepabeads sa različitim funkcionalnim grupama) kao i postupak imobilizacije prethodno hemijski modifikovanog enzima. U radu će se ispitati mogućnost direktnog vezivanja penicilin-acilaze preko amino grupa u molekulu za epoksidne grupe nosača, vezivanje enzima za nosač koji je prethodno aktiviran različitim agensima (2-aminoetanol, glutaraldehid) ili vezivanje prethodno modifikovanog enzima za nosač sa amino i epoksidnim grupama. Planirano je da se hemijska modifikacija enzima izvodi pomoću dialdehidnih derivata prirodnih polisaharida (skroba, alginata, hitozana) koji su prethodno dobijeni oksidacijom perjodatnom metodom. Ovako dobijeni glikozilovani enzim sada može da se veže za amino-nosače preko uvedenih aldehidnih grupa koje nisu od esencijalnog značaja za njegovu aktivnost i na taj način može da ne dođe do gubitaka aktivnosti usled imobilizacije. Očekuje se, takođe, da će ova metoda značajno doprineti stabilizaciji enzima jer su i u prirodi najstabilniji enzimi glikoproteini i enzimi se obično proizvode u glikozilovanom obliku u slučaju kada ih ćelija proizvode u spoljašnju sredinu, gde su nepovoljniji uslovi. Ispitaće se i mogućnost aminacije penicilin-acilaze 2-aminoetanolom i imobilizacije tako modifikovanog enzima na nosače sa epoksidnim grupama u cilju vezivanja enzima za nosač preko većeg broja hemijskih veza (tzv. „višetačkasto vezivanje“). Za ovakve biokatalizatore se očekuje da će pokazati veliku termalnu i pH stabilnost, što će se, naravno, utvrditi na osnovu proučavanja kinetike termalne deaktivacije enzima na nekoliko temperatura. U slučaju svih primenjenih metoda imobilizacije, dobijeni biokatalizatori će biti u potpunosti okarakterisani za primenu u reakciji hidrolize penicilina G i upoređeni sa referentnim sistemom sa nativnim enzimom. Potpuna karakterizacija biokatalizatora podrazumeva određivanje mase vezanog enzima na nosaču, specifične aktivnosti, prinosa imobilizacije, poznavanje pH i temperaturnog profila, termalne stabilnosti, stabilnosti pri lagerovanju, operativne stabilnosti i mogućnosti reciklacije. U nekim od imobilisanih sistema ispitaće se kinetika reakcije i efekti inhibicije supstratom i proizvodima reakcije i na osnovu dobijenih rezultata izvešće se odgovarajući kinetički modeli za slobodan i imobilisani enzim.

U cilju optimizacije enzimskog postupka hidrolize penicilina G, pored izbora nosača i metode za imobilizaciju enzima, potrebno je podesiti procesne parametre i način izvođenja procesa, izabrati konfiguraciju i odgovarajući režim rada bioreaktora. U tom cilju, za nekoliko odabranih imobilisanih enzima ispitaće se početna kinetika hidrolize penicilina G u tri reaktorska sistema: šaržnom reaktoru sa mešanjem, protočnom reaktoru sa pakovanim slojem čestica biokatalizatora i protočnom reaktoru sa pakovanim slojem sa recirkulacijom reakcione smeše. Na dobijene kinetičke rezultate primeniće se različiti kinetički modeli koji uzimaju u obzir različite vrste inhibicije. Na osnovu usvojenog kinetičkog modela sa najmanjim odstupanjima od eksperimentalnih rezultata, utvrdiće se inhibitorni efekti supstrata i proizvoda reakcije u različitim reaktorskim sistemima.

U cilju optimizacije enzimske sinteze ampicilina pomoću odabranog imobilisanog enzima potrebno je ispitati uticaj procesnih parametara (pH, temperature, koncentracije supstrata i biokatalizatora, početne aktivnosti vode), načina izvođenja procesa (eventualno odvođenje proizvoda reakcije) i dodatka kosolventa na brzinu reakcije i prinos proizvoda.

4. Metode istraživanja

Aktivnost penicilin-acilaze će se određivati spektrofotometrijskom metodom na osnovu merenja količine nastalog proizvoda (6-APK) uz korišćenje *p*-dimetilaminobenzaldehida kao bojenog indikatora. U reakciji sinteze ampicilina, supstrati i proizvodi enzimske sinteze će se analizirati tečnom hromatografijom pod visokim pritiskom. Sadržaj proteina će se određivati standardnim spektrofotometrijskim metodama po Loriju, dok će se čistoća enzimskog preparata utvrditi SDS-PAGE elektroforezom. Svi postupci hemijske modifikacije enzima kao i imobilizacije enzima će se izvoditi prema originalnim ili modifikovanim metodama iz literature. U slučaju imobilizacije penicilin-acilaze na hitozanske čestice primeniće se tehnike za dobijanje mikročestica i to tehnika elektrostatičke ekstruzije. Dobijeni imobilisani enzimi biće

okarakterisani prema standardnim metodama za određivanje termostabilnosti i operative stabilnosti, pH i temperaturnog profila, dok će se obrazovanje hemijskih veza između enzima i nosača utvrditi FT-IR spektroskopijom.

5. Aktualnost problematike u svetu

Istraživanja u oblasti biohemijskog inženjerstva u velikoj meri su usmerena ka razvijanju novih enzimskih postupaka proizvodnje jedinjenja od komercijalnog značaja. Sve je veći broj industrijskih postupaka koji se zasnivaju na katalitičkom dejstvu enzima zahvaljujući razvoju novih tehnika imobilizacije enzima koje su dovele do drastičnog smanjenja troškova jer su omogućile višestruku upotrebu skupih enzima i razvoj kontinualnih postupaka u protočnim reaktorima.

Interes za efikasnom enzimskom sintezom polusintetskih antibiotika koja je zasnovana na principima zaštite energije i životne okoline je u stalnom porastu. U toku prethodne tri decenije objavljen je veliki broj naučnih radova i patenata na temu enzimске sinteze ampicilina i drugih polusintetskih antibiotika, od kojih su neki i komercijalizovani u postrojenjima različitih kapaciteta. Međutim, iako je postalo jasno da se radi o veoma perspektivnoj tehnologiji koja će u potpunosti potisnuti hemijsku, još uvek nisu postignuti odgovarajući kapaciteti proizvodnje zbog malih prostorno-vremenskih prinosa reaktora i male stabilnosti imobilisanih enzima. U cilju prevazilaženja ovih problema nastavljaju se istraživanja u pravcu stabilizacije penicilin-acilaze imobilizacijom na različite nosače i drugim postupcima kao i optimizacijom procesnih uslova i konstrukcije bioreaktora.

6. Očekivani rezultati

Očekuje se da će navedena istraživanja dati značajan naučni doprinos u sagledavanju mogućnosti primene imobilisanih enzima u hidrolizi prirodnog penicilina kao i sintezi ampicilina. Isto tako, rezultati koji će proisteci iz ove doktorske disertacije mogu da doprinose razumevanju mehanizama i kinetike hidrolize penicilina G u različitim sistemima sa imobilisanom penicilin-acilazom, naročito vrstama i efektima inhibicije.

B. Biografski podaci o kandidatu

Milena Žuža, diplomirani inženjer tehnologije, profil biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija, rođena je 20. novembra 1980. godine u Sarajevu. Osnovnu školu „Josif Pančić“ i V beogradsku gimnaziju završila je u Beogradu. 1999. godine upisala je studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu i diplomirala 08.10.2004. godine na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju sa ocenom na diplomskom radu 10 (deset) i prosečnom ocenom u toku studija 9,25.

U toku 2003. godine boravila je na stručnom usavršavanju u Nemačkoj, Institut für Chemische Verfahrenstechnik, TU Clausthal-Zellerfeld. Dobila je Specijalno priznanje za 2005. godinu za izuzetan uspeh u toku studija na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu od Srpskog hemijskog društva, dok je 2001. i 2004. godine dobila Nagradu za najbolje studente u generaciji od Fondacije „Panta S. Tutundžić“.

Po završetku osnovnih studija 2004. godine, upisala je doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu, odsek Biotehnologija. Položila je sve ispite predviđene planom i programom doktorskih studija TMF-a sa prosečnom ocenom 10 (deset). Pohađala je međunarodnu letnju školu „Advanced Biomedical Technologies for Treatment of Osteochondral Defects“, u Piranu, Slovenija, u organizaciji TMF-a Univerziteta u Beogradu, Blood Transfusion Centre of Slovenia, National Institute of Biology, Slovenija, i Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society i položila je završni ispit ove škole, nivoa predmeta doktorskih studija (4 ECTS).

Milena Žuža je bila stipendista Ministarstva nauke za doktorske studije u periodu od 01.02.2005. godine do 30.05.2009., a trenutno je angažovana kao istraživač-saradnik na projektu Ministarstva „Razvoj biotehnoških postupaka za proizvodnju aditiva i novih formulacija za prehrambenu industriju“ (TR-20064). Od školske 2006/2007. godine, angažovana je na izvođenju vežbi iz predmeta: Industrijski enzimski procesi, Farmaceutska biotehnologija i Enzimsko inženjerstvo.

C. Objavljeni naučni radovi i saopštenja

Naučni radovi objavljeni u časopisima međunarodnog značaja (M₂₃)

1. **Milena Žuža**, Nenad Milosavić, Zorica Knežević-Jugović, Immobilization of modified penicillin G acylase on Sepabeads carriers, *Chemical papers*, 63(2) (2009) 117–124.

Naučni radovi objavljeni u časopisima međunarodnog značaja verifikovani posebnom odlukom (M₂₄)

2. **Milena G. Žuža**, Slavica S. Šiler-Marinković, Zorica D. Knežević, Preparation and characterization of penicillin acylase immobilized on Sepabeads EC-EP carrier, *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 13 (2007) 205-210.

Naučni rad objavljen u vodećim časopisima nacionalnog značaja (M₅₁)

3. **Milena G. Žuža**, Slavica S. Šiler-Marinković, Zorica D. Knežević, Immobilization of penicillin acylase from *Escherichia coli* on commercial Sepabeads EC-EP carrier; *Acta Periodica Technologica*; 38 (2007) 173-182.

Naučni rad saopšten na skupu međunarodnog značaja, štampan u celini (M₃₃)

4. **Milena G. Žuža**, Nenad B. Milosavić, Slavica S. Šiler-Marinković, Zorica D. Knežević, Immobilization of modified Penicillin G acylase on Sepabeads carriers, 35th *International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering*, J. Markoš, ed., Tatranské Matliare, Slovakia, 26-30 May, 2008, Proceedings, p. 227-1-227-11.

5. Zorica Knežević-Jugović, Dejan Bezbradica, **Milena Žuža**, Nenad Milosavić, Covalent immobilization of lipase on purolite for non-aqueous synthesis, *Proceedings of the 36th International Conference of SSCHE*, J. Markoš, ed., Tatranské Matliare, Slovakia, 25-29, 2009, p. 323-1-323-9.

Naučni rad saopšten na skupu nacionalnog značaja štampani u celini

6. **Milena G. Žuža**, Nenad B. Milosavić, Slavica S. Šiler-Marinković, Zorica D. Knežević, Immobilization of starch-Penicillin G acylase neoglycoenzyme on Sepabeads, XLVI Savetovanje Srpskog hemijskog društva, CD sa objavljenim radovima, Beograd, 2008, BT08, 59-62.

7. **Milena Žuža**, Slavica Šiler-Marinković, Zorica Knežević, Immobilization of penicillin acylase from *Escherichia coli* on commercial Sepabeads carrier, VII Simpozijum “Savremene tehnologije i privredni razvoj”, CD sa objavljenim radovima, Leskovac, 2007, BIH-1/BE-1, 33-42.

D. ZAKLJUČAK

Na osnovu svega izloženog, Komisija smatra da je tema doktorske disertacije pod naslovom “**RAZVOJ IMOBILISANIH SISTEMA SA PENICILIN-ACILAZOM IZ *Escherichia coli* ZA DOBIJANJE POLUSINTETSKIH PENICILINA**” koju je predložila Milena Žuža, dipl. inž., naučno zasnovana, pa predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko–metalurškog fakulteta da je prihvati i da za mentora imenuje dr Zoricu Knežević-Jugović, vanrednog profesora Tehnološko-metalurškog fakulteta u Beogradu.

U Beogradu, 15.01.2010. godine

ČLANOVI KOMISIJE

Dr Zorica Knežević-Jugović, van. prof TMF-a

Dr Slavica Šiler-Marinković, red. prof TMF-a

Dr Bojana Obradović, van. prof. TMF-a

Dr Mirjana Antov, van. prof.
Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu